Aus dem physiologischen Institut zu Würzburg.

SALZE DES BLUTES

II. TEIL.

SALZE DER BLUTKÖRPER.

HABILITATIONSSCHRIFT

VERFASST UND DER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER

KGL. BAYER. JULIUS-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT WÜRZBURG

VORGELEGT VON

DR. MED. ET PHIL. AUGUST GÜRBER.

WÜRZBURG.
KGL. UNIVERSITÄTSDRUCKEREI VON H. STÜRTZ.
1904.

Aus dem physiologischen Institut zu Würzburg.

SALZE DES BLUTES

II. TEIL.

SALZE DER BLUTKÖRPER.

HABILITATIONSSCHRIFT

VERFASST UND DER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER

KGL. BAYER. JULIUS-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT WÜRZBURG

VORGELEGT VON

DR. MED. ET PHIL. AUGUST GÜRBER.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

WÜRZBURG.
KGL. UNIVERSITÄTSDRUCKEREI VON H. STÜRTZ.
1904.

1. Einleitung.

Im ersten Teil meiner Untersuchungen über die Salze des Blutes (1) erwies sich die Dialyse als ein ausserordentlich wertvolles Hilfsmittel für die Analyse der Mineralbestandteile des Blutserums. Es gelang mir damit, das von der Theorie wohl geforderte aber analytisch noch nicht festgestellte saure Alkalikarbonat mit aller Sicherheit nachzuweisen, ferner konnte ich zeigen, dass die Chloride im heutigen physikalisch-chemischen Sinne gelöst im Blutserum enthalten sind und dass die Aschenanalyse niemals ein richtiges Bild vom Salzgehalt des Serums zu geben vermochte. Auch der sichere Nachweis von Sulfaten im Serum und des fast gänzlichen Fehlens der früher so hoch eingeschätzten Phosphate darin darf als weiterer Erfolg der Dialysenanalyse genannt werden.

Ausgehend von der Vorstellung, dass alle nicht kolloidalen Bestandteile des Serums und damit auch seine Salze bei der Dialyse gegen eine bestimmte Menge Wasser so lange in dieses Wasser übergehen müssten, bis der Konzentrationsausgleich erfolgt sei und dass man dann in dem eiweissfreien Dialysat ohne Veraschung die Serumsalze qualitativ und quantitativ analysieren und die gefundenen Werte durch Rechnung auf das Serum beziehen könne, liess ich eine abgemessene Menge Serum absolut dicht in einen Pergamentschlauch eingeschlossen gegen die gleiche oder eine doppelte Menge Wasser in einem zum fortwährenden kräftigen Schütteln gut verschliessbaren Gefäss drei Tage dialysieren. Das immer frei von Eiweiss befundene Dialysat wurde dann titrimetrisch auf seinen Chlorgehalt und seinen Gehalt an titrierbarem Alkali untersucht

und die erhaltenen Daten auf das Serum berechnet. Gleichzeitig wurde der Gehalt des Serums an Chlor und titrierbaren Alkali auch durch eine Aschenanalyse ermittelt und die Resultate beider Analysen miteinander verglichen. Dabei ergab sich eine volle Übereinstimmung im gefundenen Chlorgehalt, d. h. die Chloride erwiesen sich im Blutserum als wirklich nur frei gelöst enthalten und somit schien das Prinzip der Dialysenanalyse richtig und brauchbar zu sein. Titrierbares Alkali wurde jedoch bei der Aschenanalyse in wesentlich grösserer Menge gefunden als durch die Dialyse und ähnliche Verhältnisse fand Rosenschein(2) auch bezüglich des Kalks, woraus folgt, dass das titrierbare Alkali oder die Alkalikarbonate und der Kalk nicht in der Menge in diffusibler Form, d. h. als Salze frei gelöst im Serum enthalten sein können, wie die Aschenanalyse angibt und dass daher letztere zu falschen Vorstellungen über den Salzgehalt des Serum führt. Zugleich geht aber aus diesen Befunden hervor, dass ein Teil der Alkalimetalle und des Calciums im Serum an das kolloidale Eiweiss gebunden ist.

Ein weiterer und vielleicht noch überzeugenderer Beweis für das freie Gelöstsein der Chloride des Serums, und deren Bestimmungsmöglichkeit durch die Dialyse, sowie für die Beziehungen eines Teils der Alkalien zu den Eiweisskörpern des Serums liess sich auch noch auf einem andern Wege erbringen. Wurde nämlich aus dem Dialysat unter Berücksichtigung der in das Serum überdiffundierten Menge Wasser, der Gehalt an Chlor- und titrierbarem Alkali des Schlauchinhalts berechnet, dann dieser ein zweites Mal dialysiert, so konnte man berechnen, wie viel Chlor und titrierbares Alkali im zweiten Dialysat gefunden werden müssen, wenn ein osmotischer Konzentrationsausgleich wirklich erfolgte. Für die Chloride stimmte denn auch Berechnung und Befund genau überein, titrierbares Alkali fand sich dagegen im zweiten Dialysat weniger als die Rechnung verlangte. Das Verständnis für diesen scheinbaren Misserfolg der Dialysenanalyse wurde mir dann später, als ich die Beziehungen zwischen der Menge des diffusiblen, titrierbaren Alkalis und der Kohlensäurespannung des Serums erkannte (1) und auch Rosenschein(2) den Nachweis erbrachte, dass unter einer Atmosphäre Kohlensäuredruck fast der ganze Kalk des Serum

diffusibel wird. Da aber bei der zweiten Dialyse der Kohlensäuredruck im Dialysator wesentlich geringer sein musste als bei der ersten Dialyse, so ist es jetzt verständlich, warum im zweiten Dialysat der Gehalt an titrierbarem Alkali dem aus einem bei höherer Kohlensäuretension berechneten nicht entsprach. Dass ich durch diese Beobachtungen zum erstenmal sichere Beziehungen der Bluteiweisskörper zum Kohlensäurewechsel des Blutes feststellte, ist vielfach in der neueren Literatur übersehen worden.

Es lag nun gewiss nahe, diese so erfolgreiche Dialysenanalyse auch da anzuwenden, wo die Ergebnisse der Aschenanalyse von vornherein ein viel weniger zutreffendes Bild vom Salzgehalt erwarten liess als beim Serum, nämlich bei den Blutkörpern, denn bei dem hohen Gehalt an Hämoglobin mit seinen stark sauren und basischen Eigenschaften, war eine nicht unbeträchtliche kolloidale Bindung der in den Blutkörpern enthaltenen Metalle zu erwarten. Die bisherigen Vorstellungen vom Salzgehalt der Blutkörper gründet sich ausschliesslich auf Aschenanalyse. Wenn man auch bei der Deutung der hiebei gefundenen Salze die Bildungsmöglichkeiten elektronegativer Bestandteile bei dem Verbrennungsprozess ausreichend berücksichtigt hat, so ist aus den vorstehenden Darlegungen über die Erfolge der Dialysenanalyse wohl ohne weiteres erkenntlich, dass uns die Aschenanalyse weder bezüglich der Form noch der Menge der Salze der Blutkörper sicheren Aufschluss geben kann und wie schwer die Irrtümer sind, die durch die Deutung der Aschenanalyse für die heutige Vorstellung vom Salzgehalt der Blutkörper unterliefen, das zu zeigen, soll ein wesentlicher Teil dieser Mitteilung sein.

Im Gegensatz zum Blutserum mit seinem Reichtum an Natrium und Chloriden, wird den Blutkörpern, ohne sich jedoch qualitativ und quantitativ eingehender zu präzisieren, ein starkes Überwiegen des Kaliums und der Phosphate in ihrem Salzgehalt zugesprochen. Ja die Blutkörper vom Pferd und Schwein sollen nach Bunge(3) und seinem Schüler Abderhalden(4) überhaupt kein Natrium enthalten und bei den Blutkörpern anderer Tierarten soll der Gehalt an Kalium mindestens stark überwiegen. Dass die ersteren zwei Behauptungen nicht zutreffend sind und die andere mindestens stark

übertrieben bezeichnet werden darf, hat zum Teil schon mein Schüler Thelen(5) selbst auf dem Wege der Aschenanalyse einwandsfrei bewiesen. Er wusch zu diesem Zwecke den Blutkruor mit einer isotonischen Kaliumchloridlösung so lange aus, bis die Waschflüssigkeit keine Natriumflamme mehr gab, veraschte dann den ausgewaschenen Kruor und konnte in allen untersuchten Blutarten qualitativ und quantitativ Natrium in den Blutkörpern nachweisen, wobei er allerdings den Natriumgehalt der Pferdeblutkörper gering, den der Schweineblutkörper sehr gering fand. Dagegen zeigten die Blutkörper vom Rind Natrium und Kalium in fast äquivalenten Mengen. Diese Resultate beweisen, dass selbst auf die bisherigen Aschenanalysen der Blutkörper kein absoluter Verlass ist und das mag hauptsächlich in der indirekten Form dieser Analysen begründet sein, denn Voraussetzung dabei ist die Möglichkeit einer genauen Bestimmung der Blutkörpermenge und dass diese nicht richtig ausfallen kann für die Pferde- und Schweineblutkörper unter der von Bunge(3) gemachten, aber von Thelen(5) als nicht richtig erkannten Annahme der Abwesenheit von Natrium in den Blutkörpern der genannten Tiere ist selbstverständlich. Aber auch die an sich so vorzügliche Methode Bleibtreus(7) zur Bestimmung des Blutkörpervolums ist nicht bei allen Blutarten zuverlässig, besonders beim Pferdeblut, dessen Blutkörper sich so rasch senken, dass schon während des Abmessens der Blutmengen Entmischung eintritt. Wenn dieses nicht mit grosser Übung und Fertigkeit erfolgt, kann sie zu sehr fehlerhaften Resultaten führen. Daraus erklärt sich auch, dass ich selbst bei einer indirekten Analyse der Aschenbestandteile der Pferdeblutkörper dieselben natriumfrei fand und daraus Schlüsse auf Grund anderweitigen Untersuchungen folgerte, die ebenfalls bei dieser Gelegenheit einer entsprechenden Revision unterworfen werden sollen.

Ich habe nämlich gefunden (1 u. 6), dass unter dem Einfluss von Kohlensäure Chlor aus dem Blutserum in die Blutkörper wandert und dass das Blutserum dann dem verschwundenen Chlor, oder besser Salzsäure äquivalent an titrierbarem Alkali zunimmt. Bei der Annahme, dass die Pferdeblutkörper natriumfrei seien und gestützt auf den direkten Nachweis, dass sich der Kaliumgehalt des

Serum unter dem Einfluss der Kohlensäure nicht ändert, habe ich dann die Behauptung aufgestellt, es handle sich hier um einen Übergang von Salzsäure aus dem Serum in die Blutkörper, da eine Mitwanderung von Kalium oder Natrium als ausgeschlossen erscheine. Auf diese auch in der Literatur (8 u. 9) mehrfach angefochtene Deutung der Chlorwanderung zwischen Blutkörpern und Serum näher einzugehen und ihre volle Richtigkeit darzutun, muss ich mir für das Ende dieser Abhandlung, nachdem wie ich hoffe, ein klareres Bild von den Salzen der Pferdeblutkörper gegeben ist, vorbehalten.

Um nun wieder auf die Salze der Blutkörper und die günstigen Aussichten auf eine erfolgreiche Untersuchung derselben durch die Dialysenanalyse zu kommen, scheine ich vor allem, die Frage beantworten zu müssen, warum ich nicht schon vor vielen Jahren die von mir geschaffene Untersuchungsmethode auf die Blutkörper zur Anwendung gebracht habe? Zum Teil liegt die Antwort in den grossen Schwierigkeiten, die für die Untersuchung der Blutkörper durch das sie umgebende Serum bedingt sind, denn nicht nur ist die unerlässliche Bestimmung des Blutkörpervolums, zumal beim Pferdeblut und dieses konnte, wie später ausführlich begründet wird, allein für die geplante Untersuchung in Frage kommen, wenig zuverlässig, sondern auch die Möglichkeit, dass die Salze der Blutkörper ihre Bestandteile gegen Salze des anhängenden Serums austauschen und so wasserunlösliche Salze entstehen könnten, musste eine Untersuchung der Blutkörpersalze durch die Dialyse als wenig versprechend erscheinen lassen.

Doch trotz dieser Bedenken habe ich schon vor vielen Jahren einige Dialysenanalysen mit Blutkörperkruor auszuführen versucht, der Erfolg war jedoch zu einer Fortsetzung der Versuche wenig ermunternd. Zwar liess sich auf dem Wege der wiederholten Dialyse der Beweis für den osmotischen Konzentrationsausgleich der Chloride erbringen, mit dem durch die Aschenanalyse ermittelten Gehalt an Chloriden stimmte der durch die Dialyse gefundene jedoch gar nicht überein. Er war, was mir besonders unverständlich sein musste, bei der Aschenanalyse viel kleiner als bei der Dialysenanalyse. Auch die Bestimmung des titrierbaren Alkali gab

unter sonst gleichen Bedingungen ganz verschiedene Werte. Vor allem aber waren die Ergebnisse der Phosphorsäurebestimmung sehr unbefriedigend. Mehrfach war im Dialysat die sicher erwartete Phosphorsäure in kaum erkenntlichen Spuren vorhanden, andere Male zeigten die Dialysate reichlichen Gehalt an Phosphaten. Da mir für diese widersprechenden Resultate damals keine Erklärung zu Gebote stand, kam ich zu der Annahme, dass die Dialysenmethode für die Untersuchung der Blutkörpersalze ungeeignet sei.

Einen ganz hübschen Nebenerfolg aber hatten diese Dialysenversuche insofern, als ich dadurch zu einer neuen, und selbst in den schwierigsten Fällen sicheren Methode (8 u. 9) zur Herstellung von Hämoglobinkristallen gelangte. Bei der Untersuchung des dialysierten Pferdekörperkruors erwies sich dieser häufig zu einer fast festen Masse erstarrt, die aus prachtvoll ausgebildeten Hämoglobinkristallen bestand und durch Dialyse gegen verdünnten Alkohol konnte ich auch die Hämoglobine aller leicht zugänglichen Säugetierblutarten zur Kristallisation bringen.

Dass dieses kristallinische Erstarren des Pferdekruors die Dialyse schon aus mechanischen Gründen ungünstig beeinflussen müsse, war ohne weiteres einzusehen, aber warum gerade dann, wenn die Bedingungen für die Dialyse sich durch die Kristallisation des Hämoglobins am ungünstigsten gestalteten, das Dialysat die höchsten Gehalte an Phosphorsäure zeigte, blieb mir ganz und gar rätselhaft. Erst in letzter Zeit ist mir auch hierfür ein Verständnis geworden, wovon später noch ausführlich die Rede sein wird.

Es lag nun nahe, den störenden Einfluss der Kristallisation des Hämoglobins auf die Dialyse der Pferdeblutkörper durch zweckmässige Verdünnung des Kruors mit Wasser auszuschalten, was auch leicht durch Auflösen des Kruors in doppeltem Volum Wasser erreicht wurde. Durch diese Verbesserung erhielt ich nun wohl konstantere Resultate bezüglich des titrierbaren Alkalis und der Phosphorsäure, d. h. letztere konnte jetzt konstant nur in Spuren im Dialysat gefunden werden, was mir, befangen in der Vorstellung vom Phosphatreichtum der Blutkörper, durchaus nicht als richtig erscheinen wollte.

Es waren aber auch noch die Fehlerquellen zu berücksichtigen, die durch das dem Kruor anhängende Serum — und nach meiner Berechnung (10) betrug es fast ein Drittel vom Volum des Kruors —, bedingt sein konnten und da lag vor allem die Vermutung nahe, dass die Phosphate der Blutkörper mit dem Kalk des Serums unlösliches Calciumphosphat bildeten und dass deshalb ein grosser Teil der Phosphorsäure der Blutkörper nicht in das Dialysat übergehe.

Es blieb demnach nichts anderes übrig, als darauf hinzustreben, den Körperkruor durch eine die Salze der Blutkörper auf keinen Fall beeinflussende, aber auch die Blutkörper als solche nicht schädigende Weise vom Serum zu befreien und hierzu schien das Auswaschen mit isotonischer Rohrzuckerlösung die besten Aussichten auf einen günstigen Erfolg zu bieten. Zwar haben mir schon die Versuche Thelens (5) mit isotonischer Chlorkaliumlösung und später eigene Auswaschversuche mit anderen Salzlösungen gezeigt, dass viele Blutkörperarten ein Wegwaschen des Serums nicht ohne Schädigung ertragen und dass das besonders für die Pferdeblutkörper gilt. Andere Blutkörper dagegen, z. B. die vom Rind und vom Schwein schienen durch das Auswaschen in keiner Weise geschädigt zu werden. Jedenfalls war es geboten, die Auswaschversuche bei möglichst vielen Blutarten anzustellen, um so einerseits die geeignetste Blutart zu finden und andererseits eventuell die Frage der Blutkörpersalze in grösserem Umfange behandeln zu können.

2. Beschaffung des Untersuchungsmaterials.

Auswaschversuche habe ich mit Rinder-, Hammel-, Schweine-, Kaninchen-, Hunde-, Katzen- und Pferdeblutkruor angestellt. Um zu den für jede Blutkörperart passenden, d. h. ihrem Serum isotonischen Rohrzuckerlösungen zu gelangen, wurde jedesmal der Gefrierpunkt des Serums bestimmt, daraus die Konzentration der Kochsalzlösung von gleichem Gefrierpunkt berechnet und dann danach eine Rohrzuckerlösung von zehnfacher Gewichtskonzentration gemacht, die bekanntlich mit der Kochsalzlösung

isotonisch ist. Den Rohrzucker bezog ich als garantiert reinstes Präparat von Kahlbaum in Berlin. Die Zuckerlösungen wurden häufig auch auf hämatokritischem Wege auf ihre Richtigkeit geprüft. Zum Ausschleudern des Kruors diente die vorzügliche Wasserzentrifuge von Runne in Heidelberg, die bei dem hiesigen Wasserdruck von etwa 70 Metern im Mittel 2500 Umdrehungen in der Minute macht.

Die Auswaschungen wurden in folgender Weise vorgenommen; In tarierte Zentrifugengläser kamen abgewogene Mengen Blut, dann wurde bis zur maximalen Senkung der Blutkörper zentrifugiert, das Serum sorgfältigst abgehoben, die Gläser samt Kruor wieder gewogen, um das Gewicht des Kruor festzustellen, das doppelte oder dreifache Gewicht Zuckerlösung zugegeben, kräftig geschüttelt und wieder bis zur maximalen Senkung der Blutkörper zentrifugiert. Nach sorgfältigem Abheben der Waschflüssigkeit wurde der Kruor wieder gewogen, dann von neuem mit dem doppelten Gewicht Rohrzuckerlösung geschüttelt, zentrifugiert und das je nach dem Verhalten der Blutkörper bis zu 34 mal wiederholt, wobei ich besonders immer das Gewicht des Kruors bestimmte. Von der dritten Auswaschung an gelangte dann jedesmal auch die abgeheberte Waschflüssigkeit, sofern die Umstände es gestatteten, zur Untersuchung auf Chlor, titrierbares Alkali und besonders auch auf Natrium durch die Flammenreaktion.

Diese Auswaschversuche führten nun bei fast all den untersuchten Blutarten zu ausserordentlich überraschenden Ergebnissen, von denen ich aber, um das Thema dieser Abhandlung nicht zu überschreiten, nur das mitteilen kann, was zur Begründung des weiteren Versuchsplans notwendig ist. Vor allem ist die grosse Verschiedenheit im Verhalten der Blutkörper beim Auswaschen hervorzuheben. Das gilt aber nicht nur für die Blutkörper verschiedener Blutarten, sondern auch für die einer und derselben Blutart. Im allgemeinen lassen sich drei Gruppen unterscheiden, von denen die erste die Blutarten umfasst, deren Körper scheinbar nicht durch das Auswaschen leiden. Hierher gehört das Rinder-, Hammel-, Schweine- und Kaninchenblut. Zur zweiten Gruppe zähle ich die Blutarten, deren Blutkörper schon beim 2. oder 3. Aus-

waschen beginnen sich stark aufzulösen, z. B. das Hundeblut. Das Charakteristische der dritten Gruppe ist die Agglutination der Blutkörper, was vor allem das Pferdeblut aber auch das Katzenblut und unter gewissen Bedingungen auch das Rinderblut zeigen, doch ist bei der letztern Blutart die Agglutination kein bleibender Zustand und führt auch nicht, wie beim Pferde und Katzenblut bei Fortsetzung des Auswaschens zur Hämolyse, so dass sich die Einreihung des Rinderblutes in die erste Gruppe durchaus rechtfertigt, ja es muss sogar als das Prototyp dieser Gruppe angesehen werden.

1. Gruppe: Bei den ersten 5—6 Auswaschungen verhielten sich die Rinder-, Hammel-, Schweine- und Kaninchenblutkörper ziemlich übereinstimmend; das Kruorvolum blieb konstant, nur stellte es sich bei dem sonst schwieriger zu zentrifugierenden Rinder-, Hammel- und Schweineblut rascher auf das Minimum ein, als beim ursprünglichen Blut. Die Waschflüssigkeit war durchweg frei von Hämoglobin, zeigte aber bei der 3. und 4. Auswaschung eine mehr oder weniger starke und sehr auffällige Trübung, die später noch eingehend zu besprechen sein wird. Bei dem 5. und 6. Auswaschen war dagegen die Flüssigkeit ganz klar und zeigte nur beim Hammelblut einen leichten Stich ins Rötliche. Da eine Überschlagsrechnung über den Grad der Verdünnung des im ursprünglichen Blutkruor noch enthaltenen Serums eine Verdünnung desselben auf das ungefähr 3000fache bei der 5. und gar auf das 15000fache bei der 6. Auswaschung ergab, ausserdem sich die Waschflüssigkeiten als frei von Eiweiss erwiesen, so erwartete ich selbstverständlich in der Waschflüssigkeit weder Chlor noch titrierbares Alkali, noch Natrium zu finden und damit den gewünschten Erfolg der Auswaschungen des Kruors erreicht zu haben.

Die Untersuchung der 5. und 6. Waschflüssigkeiten belehrten mich jedoch rasch eines andern, denn sie zeigten bei allen Blutarten dieser Gruppe deutliche, ja zum Teil noch starke Chlorreaktion. Ebenso war Natrium aber auch Kalium, letzteres besonders deutlich beim Schweineblut, durch die Flammenreaktion in diesen Waschflüssigkeiten nachzuweisen. Titrierbares Alkali enthielten sie dagegen nicht, eher reagierten sie auf Phenolphthalein schwach sauer.

Auf diesen Befund hin wurden die Auswaschversuche fortgesetzt, mussten aber beim Hammelblut wegen starker Hämolyse bald eingestellt werden, während bei den anderen drei Blutarten von der 7. und 8. Auswaschung an die Waschflüssigkeit bald mehr bald weniger deutliche Rotfärbung zeigte, jedoch von eigentlicher Hämolyse nicht gesprochen werden kann, so dass die Untersuchung der Waschflüssigkeiten besonders auch auf Chlor anstandlos direkt geschehen konnte.

Dabei gab der Kaninchenkruor bei der 13.—14. Auswaschung eine chlorfreie Waschflüssigkeit und das Kruorvolum hatte sich um etwa $^1/_6$ vermindert. Bei noch weiterem Auswaschen trat allmählich Hämolyse ein. Ein fast gleiches Resultat hatten auch die Auswaschungen des Schweinekruors. Der Rinderkruor gab dagegen erst mit der 31.—32. Auswaschung eine definitiv chlorfreie Waschflüssigkeit. Da die Auswaschversuche mit Rinderkruor ein ganz besonderes Interesse verdienen, so mögen diese hier etwas ausführlicher behandelt werden.

Schon bei der 9. Auswaschung erwies sich in einem Falle die Waschflüssigkeit als chlorfrei, zugleich zeigte der Kruor eine merkwürdige Veränderung, er hatte seine leichte Beweglichkeit verloren und war zu einer ziemlich zähflüssigen Masse geworden. Die Blutkörper waren agglutiniert und dieser Zustand erhielt sich auch bei der 10. und 11. Auswaschung. Zugleich hatte sich das Volum des Kruors um etwa $^1/_5$ vermindert. Nach einer Pause im Auswaschen von 10 Stunden, während der Kruor im Eisschrank aufbewahrt wurde, löste sich jedoch die Agglutination wieder vollständig und bei erneutem Auswaschen erwies sich die Waschflüssigkeit wieder stark chlorhaltig. Schon nach zweimaliger Wiederholung des Auswaschens enthielt die Waschflüssigkeit jedoch kein Chlor mehr und zugleich stellte sich von neuem die Agglutination ein, die aber gleich bei der nächsten Auswaschung wieder verschwand. Es trat wiederum Chlor in der Waschflüssigkeit auf und verschwand erst aus derselben, aber nunmehr definitiv bei der 31. Auswaschung. Ein ähnliches Ergebnis jedoch ohne die Erscheinungen der Agglutination hatte ein zweiter Auswaschversuch mit Rinderkruor. Auch hier wurde endgültig chlorfreie Wasch-

flüssigkeit erst bei der 28. Auswaschung erhalten und da bei diesem Versuch der jeweilige Chlorgehalt der Waschflüssigkeit titrimetrisch festgestellt wurde, so waren hier besonders leicht die Schwankungen im Chlorgehalt der Waschflüssigkeiten zu verfolgen. Dass dieses Chlor nicht als ein Rest von den Chloriden des Blutserums angesehen werden darf, ist wohl selbstverständlich. Es kann nur aus den Blutkörpern stammen. Die Rinderblutkörper geben also und das gilt auch für die anderen Blutarten dieser Gruppe, beim Auswaschen mit Zuckerlösung Mineralbestandteile an die Waschflüssigkeit ab und bis zu welchem Grade das bei den Rinderblutkörpern der Fall ist, zeigt folgender Versuch:

1. 10 g Rinderkruor bis zum ersten Chlorminimum der Waschflüssigkeit ausgewaschen, werden getrocknet, lege artis verascht, die Asche mit 50 cm^3 Wasser extrahiert und in 10 cm^3 des Wasserextraktes das Chlor titriert. 10 cm^3 Lösung brauchen 0,36 cm^3 n/10 $AgNO_3$ = 0,0012 g Cl oder in den 10 g Kruor 0,006 g oder 0,06 % Cl.
2. 6,5 g bis zur definitiven Chlorfreiheit der Waschflüssigkeit ausgewaschener Rinderkruor, werden wie oben behandelt, die Asche ebenfalls mit 50 cm^3 Wasser gelöst, **erwies sich als vollkommen chlorfrei.** Die Rinderblutkörper haben demnach ihren ganzen Chlorgehalt an die Waschflüssigkeit abgegeben und das ohne nennenswerten Hämoglobinaustritt und ohne bei der mikroskopischen Untersuchung, abgesehen von einer geringen Zahl allerdings stark veränderter Blutkörper, ein wesentlich anderes Bild als frische Rinderblutkörper zu zeigen. Aus dem verminderten Kruorvolum muss dagegen auf eine geringe Grössenänderung der chlorfrei gewaschenen Rinderblutkörper geschlossen werden.

Wenn die Rinderblutkörper aber ihre sämtlichen Chloride verlieren können, ohne dabei zugrunde zu gehen oder auch nur wesentliche äussere Veränderungen zu zeigen, so möchte man leicht versucht sein, an der Bedeutung der Chloride für den osmotischen Druck in den Blutkörpern und für die damit in Beziehung stehenden Existenzbedingungen der Blutkörper zu zweifeln. Wie verfehlt

dies aber wäre, dürfte folgende Beobachtung lehren: Sucht man für frische Rinderblutkörper die hypotonische Zuckerlösung, bei der die Hämolyse beginnt, so wird sie zwischen 6 und 7 Zehntel von der isotonischen Konzentration gefunden, für die chloridefrei gewaschenen Blutkörper liegt sie dagegen zwischen 3 und 4 Zehntel der Normalkonzentration und selbst bei $^1/_{10}$ derselben ist die Hämolyse noch keine vollkommene, erfolgt aber rasch in reinem Wasser. Der Verlust der Chloride hat demnach in den ausgewaschenen Blutkörpern eine mächtige Änderung in den osmotischen Eigenschaften hervorgerufen. Wenn das nicht in einer starken Schrumpfung in der für sie ja hypertonischen Zuckerlösung zum Ausdruck kam, so liegt das wahrscheinlich an ähnlichen Verhältnissen, wie sie Overton (11) in den Beziehungen zwischen Hypertonie und der Gewichtsabnahme von Froschmuskeln gefunden hat, d. h. das Wasser wird in den organisierten Gebilden nicht nur durch die Salze, sondern vor allem auch durch das organische Substrat festgehalten, das ja durch seine Quellbarkeit hierzu besonders befähigt erscheint. Es liessen sich nun leicht noch eine Reihe weiterer Betrachtungen an die oben geschilderten Beobachtungen an den ausgewaschenen Rinderblutkörpern anknüpfen, doch soll auch das einer umfassenderen Behandlung des Gegenstandes vorbehalten bleiben. Nur auf den Widerspruch möchte ich noch hinweisen, in dem die Tatsache vom Austritt der Chloride und wahrscheinlich auch noch anderer Salze aus den Blutkörpern steht zu den heutigen Anschauungen von der Permeabilität der Blutkörper gegenüber gerade der Salze. Ich glaube aber, dass dieser Widerspruch nur ein scheinbarer ist, denn vieles spricht dafür, dass der Austritt der Chloride aus den Rinderblutkörpern nicht einfach auf einem osmotischen Ausgleich des Chloridgehaltes der Blutkörper gegen die chloridfreie Waschflüssigkeit beruht, sondern dass die Chloride von den Blutkörpern zu einem ganz besonderen Zwecke ausgeschieden werden. Die nähere Begründung dieser Vermutung kann ich erst, gestützt auf gewisse Beobachtungen beim Auswaschen des Pferdekruors bringen.

Um aber wieder auf den eigentlichen Zweck der Auswaschversuche zu kommen, haben sie leider das unerfreuliche Resultat gezeitigt, dass die Blutarten der ersten Gruppe, weil sie an die

Auswaschflüssigkeit Salze abgeben, zu den geplanten Salzanalysen der Blutkörper ungeeignet sind.

2. Gruppe: Ganz ungeeignet für Untersuchung der Blutkörpersalze sind auch die Blutkörper vom Hundeblut. Schon die erste Waschflüssigkeit war stark hämoglobinhaltig und bei der zweiten Auswaschung ging gleich ein grosser Teil der Blutkörper vollständig in Lösung. Wenn ich der Versuche mit Hundeblut überhaupt erwähne, so geschieht das hauptsächlich wegen der ganz besonders auffälligen Trübung, die die erste Waschflüssigkeit zeigte und auf die ich auch bei den Blutarten der ersten Gruppe aufmerksam machte.

3. Gruppe: Dass das Pferdeblut von jeher ein besonders bevorzugtes Objekt für Blutstudien ist, liegt nicht allein in der leichten Trennbarkeit von Serum und Blutkörper, sondern vor allem in seiner ganzen chemischen und physiologischen Eigentümlichkeit. Aber gerade wegen dieser seiner Sonderstellung sind die an ihm gewonnenen Untersuchungsresultate zur Beantwortung allgemeiner Fragen über die Chemie des Blutes nur mit grosser Vorsicht zu verwerten. Dass aber auch das Katzenblut, ganz abgesehen von der schwierigeren Beschaffung grösserer Mengen, sich wegen der extremen Stellung der Katze als Fleischfresser zur Untersuchung allgemeiner Blutfragen nur wenig eignet, braucht wohl kaum besonders betont zu werden. Wenn ich das Katzenblut hier berücksichtige, so geschieht das nur wegen der ganz unerwarteten Übereinstimmung im Verhalten der Katzen- und Pferdeblutkörper bei dem Auswaschen mit Zuckerlösung, während sonst die beiden Blutarten in fast allen ihren Eigenschaften den grössten Gegensatz zeigen (10). Mit diesem Hinweis soll das über das Verhalten der Katzenblutkörper beim Auswaschen ihres Kruors zu Sagende erledigt sein.

Um so eingehender muss ich dagegen die Auswaschversuche mit Pferdekruor behandeln, da dieser, wenn auch nicht ein ganz einwandfreies, so doch das bestmöglichste und daher einzig in Betracht kommende Material zu der geplanten Untersuchung der Blutkörpersalze lieferte.

Die Auswaschungen wurden ebenfalls in der früher beschriebenen Weise vorgenommen und zwar immer mit dem dreifachen Gewicht des Kruors an Zuckerlösung. Die erste Auswaschung zeigte nichts Auffälliges, der Kruor stellte sich beim Zentrifugieren meistens wieder rasch auf sein ursprüngliches Gewicht ein. Schon bei der zweiten Auswaschung änderte sich jedoch das Bild, bei gleicher Zeit des Zentrifugierens zeigte der Kruor mehr als das Doppelte des Anfangsgewichtes, konnte aber durch etwa zehnfach längeres Zentrifugieren wieder annähernd auf seine ursprüngliche Grösse gebracht werden. Diese Zunahme des Kruors ist demnach nicht durch eine Quellung der Blutkörper, sondern durch eine verminderte Sinkgeschwindigkeit derselben bedingt, was sich vielleicht aus der mächtigen Oberflächenvergrösserung erklären lässt, da alle Blutkörper extremste Stechapfelform zeigten. Da die Rinder-, Schweine- und Hammelblutkörper sich in der Zuckerlösung leichter, die Pferdeblutkörper dagegen schwerer senken als in ihrem Serum, so folgt hieraus, dass ihre Sinkgeschwindigkeit nicht nur von der Differenz der spezifischen Gewichte von Blutkörper und Serum abhängig sein kann, ein Punkt, auf den ich auch schon bei einer anderen Gelegenheit (13) aufmerksam gemacht habe. Auch bei der 3. Auswaschung senkten sich die Pferdeblutkörper noch bedeutend langsamer als in der Norm und erst bei der 4. oder gar der 5. Auswaschung erreichte der Kruor wieder rasch sein Anfangsgewicht.

Die Waschflüssigkeiten der 2. besonders aber der 3. Auswaschung zeigten immer mehr oder weniger auffällig die schon öfters erwähnte milchige Trübung. Versuche, die Ursache und das Wesen dieser Trübung aufzuklären, sind mir bis jetzt nicht gelungen, nur so viel steht fest, dass der trübende Stoff von den Blutkörpern und nicht vom Serum stammt, denn man kann Serum, in welchem Verhältnis man auch will, mit Zuckerlösung verdünnen, ohne dass die so charakteristische Trübung auch nur in Spuren auftritt. Auch von den weissen Blutkörpern ist sie unabhängig, weil sie auch nach Entfernung derselben ungeschwächt zum Vorschein kommt.

Von den Blutkörpern kann demnach etwas weggewaschen werden, was zwar sicher nicht zu ihrem Salzbestand gehört, aber

für die Existenz der Blutkörper von Bedeutung zu sein scheint. Denn bei den Hundeblutkörpern, wo, wie schon hervorgehoben, die Trübung der Waschflüssigkeit so besonders stark auftritt, ist sie unmittelbar gefolgt von der Hämolyse und bei den Pferdeblutkörpern, wo sie ebenfalls stärker ausgeprägt ist, ist die Trübung die Vorläuferin einer andern Absterbeerscheinung der Blutkörper, nämlich der Agglutination. Denn bei dem 5. bezw. 6. Auswaschen tritt Agglutination beim Pferdekruor in ganz überraschend auffälliger Weise auf und löst sich nicht wieder, wie in dem Falle beim Rinderkruor.

Schon beim Schütteln mit der Zuckerlösung verlieren die Blutkörper ihr ziemlich hellrotes Aussehen, sie werden tief dunkelrot, wie im Erstickungsblut, ballen sich zusammen und geben auf der Zentrifuge wieder ausgeschleudert ein bis zuein Fünftel geringeres Gewicht des Kruors. Letzteres beruht nicht etwa auf Wasserabgabe der Blutkörper an die Zuckerlösung, denn diese hat ihre Konzentration nicht geändert, sondern darauf, dass der Kruor fast seine ganze Zwischenflüssigkeit abgibt, indem er gleichsam zu einer homogenen zähflüssigen Masse zusammensintert, die im Maximum dieses Zustandes selbst die Deckfarbigkeit der Blutkörper verloren hat. Wenigstens ist sie in dünnerer Schicht glasig durchsichtig, so dass man den Kruor für eine reine Blutkörpermasse zu halten geneigt sein könnte. Dem ist aber leider nicht so, denn wie Bestimmungen des Rohrzuckers, die ich ebenfalls mit Hilfe der Dialyse ausführte, zeigten, muss auch der agglutinierte Kruor noch etwa 4—8 Volumprozent Zwischenflüssigkeit enthalten. Übrigens bin ich durch diese Bestimmungen des Rohrzuckers im Blutkruor zu einer neuen Methode, zur Ermittlung des Blutkörpervolums gekommen, doch bedarf die Methode noch einer besseren Ausarbeitung und vor allem auch des zweifellosen Nachweises, dass kein Zucker in die Blutkörper hineingeht, was zwar heute als ganz sicher angenommen wird, aber mir besonders unter den gegebenen Verhältnissen noch nicht als ausreichend geklärt erscheint.

Die Waschflüssigkeit vom agglutinierten Kruor war vollkommen wasserklar und liess sich von dem zähflüssigen Kruor einfach abgiessen und mittelst Filtrierpapier und durch Ausreiben

des Centrifugenglases möglichst vollständig von diesem trennen, was für die Zuckerbestimmung im Kruor von grosser Wichtigkeit ist. Ferner erwies sie sich und das muss ganz besonders betont werden, bis auf minimalste Spuren als chlorfrei, auch die Flammenreaktion auf Natrium fiel mit ihr so gut wie negativ aus. Dagegen reagierte die Waschflüssigkeit, selbst nach längerm Kochen auf Phenolphthalein ganz schwach sauer, auf Lakmus jedoch neutral.

Die Agglutination der Pferdeblutkörper war, wie schon hervorgehoben, eine bleibende, sie löste sich weder bei tagelangem Stehen des Kruors, noch bei weitern Auswaschungen des Kruors. Letztere ergaben vorerst noch eine klare, kaum rötlich gefärbte Waschflüssigkeit, die immer so gut wie frei von Chlor war. Aber schon bei der 3. weiteren Auswaschung begann sich stärkere Hämolyse bemerkbar zu machen, so dass eine Fortsetzung der Auswaschung als wertlos erschien und für das erstrebte Ziel auch keinen Sinn mehr haben konnte, denn dieses war doch mit dem Eintritt der Agglutination des Kruor schon erreicht. Die Waschflüssigkeit erwies sich frei von den Bestandteilen des wegzuwaschenden Serums und daher musste der Kruor die gewünschte Reinheit nunmehr besitzen.

Es erübrigt deshalb jetzt nur noch die Frage zu erörtern, ob die Pferdeblutkörper bei dem Auswaschen keine Änderung in ihrem Salzbestand erlitten haben. Ganz einwandfrei wird sich diese Frage wohl schwerlich je lösen lassen. Ich meinerseits möchte sie ohne Bedenken mit „nein" beantworten, denn einerseits haben die Untersuchungen der ersten vier Waschflüssigkeiten ergeben, dass sie, soweit das im Bereiche der analytischen Feststellungsmöglichkeit liegt, keine anderen und auch nicht mehr Salze enthielten, als der Verdünnung des auszuwaschenden Serums entsprach und andererseits scheint mir gerade die Agglutination dafür zu sprechen, dass die Pferdeblutkörper keine Salze beim Auswaschen abgeben. Die Blutkörperarten, bei denen das zweifellos geschieht, agglutineren beim Auswaschen nicht oder die Agglutination löst sich, wenn diese Blutkörper Salze abgegeben haben, wieder auf.

Dass die Agglutination mit der Salzfreiheit der Waschflüssigkeit in engster Beziehung steht, liess sich leicht an den Pferde-

blutkörpern beweisen. Schüttelte man nämlich den agglutinierten Pferdekruor mit einer Rohrzuckerlösung, die etwa 1 auf 2000 Na Cl oder 1 auf 10^5 Na_2CO_3 enthielt, so löste sich die Agglutination sofort wieder auf und in gleicher Weise wirkte auch der Zusatz vieler anderer Salze zur Waschflüssigkeit. Weil nun die Agglutination zum Untergang der Blutkörper führen kann und die beim Auswaschen nicht oder schwer agglutinierenden Blutkörperarten fortwährend Salze an die salzfreie Waschflüssigkeit abgeben und offenbar deshalb nicht agglutinieren, denn wenn das Auswaschen sehr rasch erfolgt und daher die Salzabgabe der Blutkörper unzureichend werden kann, dann tritt auch bei diesen Blutarten, allerdings eine nur vorübergehende, Agglutination ein, so glaubte ich in der Salzabgabe der Blutkörper beim Auswaschen nicht eine osmotische Notwendigkeit, sondern eine den Blutkörpern nützliche Einrichtung erblicken zu müssen.

Wie all dem aber auch sei, jedenfalls haben die Auswaschversuche zu einem zwar beschränkten, jedoch in seiner Qualität umso günstigern Material zur erneuten Untersuchung der Blutkörpersalze geführt und wenn damit vielleicht die quantitative Seite der Untersuchung nicht durchweg die gewünschte exakte Erledigung finden wird, so darf doch von der qualitativen Seite ein Erfolg erwartet werden.

3. Analyse der Blutkörpersalze.

Mit den in der eben beschriebenen Weise gereinigten Pferdekruor wurden sowohl Dialysen- als auch Aschenanalysen angestellt, bei den erstern unter Berücksichtigung aller bei der Untersuchung der Serumsalze gemachten Erfahrungen. Zu den Dialysenanalysen wurde der Kruor aus den früher angeführten Gründen in dem doppelten Volum Wasser gelöst, zu den Aschenanalysen direkt in abgewogener Menge bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und so der Gehalt des Kruor an Trockenrückstand ermittelt, dann verascht. Die Veraschung geschah in geräumigen Platinschalen und

2*

bei einer Temperatur, die nicht zu einer sichtbaren Glut des Schalenbodens führte. Hierbei leisteten mir Pilzbrenner von etwa 6 cm Durchmesser die besten Dienste. Der die Veraschung so erschwerenden Aufblähung der verkohlten Masse begegnete ich dadurch, dass ich sie mit einem Achatpistill von Zeit zu Zeit nach Abkühlen sorgfältig zusammenpresste, zuletzt nach Anfeuchten; dann das Pistill in der Schale rein spülte und nach neuem Trocknen die Veraschung fortsetzte bis zu einer kohlefreien Asche. Die bei der Aschenanalyse sonst vorgeschriebene Extraktion der Kohle mit Wasser zur Entfernung der in der Hitze leicht flüchtigen Alkalisalze halte ich für überflüssig, ja sogar für bedenklich, wenn unter der Voraussetzung, dass die Alkalisalze entfernt seien, was aber gewöhnlich nicht der Fall ist, die Veraschung bei starker Rotglut beendigt wird. Hierauf dürfte es auch beruhen, dass meine Aschenanalysen einen viel höheren Gehalt der Pferdeblutkörper an Alkalimetallen und besonders an Chlor ergeben, als die anderer Untersucher. Nur bei sehr Alkalikarbonat haltigen Aschen ist es von Vorteil, die Kohle zu extrahieren, damit die letzten Reste von Kohle leichter verbrennen, aber die Temperatur darf dabei nicht gesteigert werden. Die weitere Behandlung der Asche und deren Analyse erfolgte nach den bekannten Vorschriften der quantitativen Mineralanalyse mit besonderer Berücksichtigung der von Bunge(3) aufgestellten Regeln zur Analyse der Alkalimetalle.

Bezüglich der Methode der Dialysenanalyse glaube ich auf den ersten Teil dieser Untersuchung verweisen zu dürfen, nur einige Verbesserungen, die sich als wünschenswert herausgestellt haben, mögen hier kurz erwähnt werden. Da ist besonders der Ersatz der Pergamentschläuche durch extra zu solchen Zwecken hergestellte Pergamentsäcke hervorzuheben. Diese Pergamentsäcke sind ihrer Bestimmung gemäss sehr widerstandfähig, absolut dicht und gestatten infolge der grossen osmotischen Durchlässigkeit ihres Papiers eine rasche Dialyse. Sie werden ferner auch nicht mehr wie die Schläuche durch Zuschnüren mittelst Kupferdrahtschleife verschlossen, sondern durch starke Bunsenklemmen, die das fächerartig zusammengefaltete offene Ende der Säcke zupressen. Solche Klemmen müssen aber aus Reinnickel bestehen, weil Klemmen aus

andrem Material, speziell solche aus vernickeltem Messing oder Eisen, Kupfer bezw. Eisen an das Dialysat abgeben. Von den Pergamentsäcken darf nicht unerwähnt bleiben, dass sie vor dem Gebrauch mehrere Tage lang in häufig gewechseltem destilliertem Wasser auszuwaschen sind, da sie etwas schwefelsauren Kalk enthalten, was zu übersehen, bei der Untersuchung auf Kalk und Schwefelsäure zu einem schweren Irrtum führen würde. Zum Schütteln der Dialyse benutzte ich nicht mehr die Rabesche, sondern eine gute Wagenschüttelmaschine.

Zum Schluss dieser allgemeinen Bemerkungen über die Versuchsmethodik sei noch erwähnt, dass die Zuckerbestimmungen im Dialysat sowohl polarimetrisch als titrimetrisch durch Fehlingsche Lösung und auch durch Gärung mittelst des Lohnsteinschen Gärungssaccharimeters ausgeführt wurden. Um jedwelche Zersetzung auszuschliessen, erhielt das Dialysenwasser uud der Kruor einen kräftigen Zusatz von Thymol, das dann für die Gärungsprobe des Dialysats durch längeres Erhitzen auf dem Wasserbade entfernt werden musste, was zugleich mit dem für die Gärungsprobe notwendigen Konzentrieren des Dialysats geschehen kennte.

Analysiert habe ich drei bis zur Agglutination ausgewaschene Pferdeblutkruor und davon zwei teilweise in Doppelanalysen. Da ich den Sinn und das Wesen der dabei notwendigen analytischen Manipulationen als bekannt voraussetzen darf, will ich im folgenden ohne jedes weitere Beiwerk nur die Zahlenbelege anführen, aus denen sich die einzelnen Untersuchungsresultate ableiten. Dagegen muss ich hier noch der Berechnung der Dialysenanalyse eine kurze Erklärung vorausschicken. Bei den Serumanalysen wurde das angewandte Volum Serum in der Rechnung, ohne Rücksicht auf seine festen Bestandteile, gleich Wasser gesetzt und das durfte bei dem relativ geringen Gehalt an Trockensubstanz auch geschehen, ohne dadurch das Resultat mit mehr als etwa 2 % Fehler zu belasten. Bei den Blutkörpern mit ihrem vierfach höheren Gehalt an Trockensubstanz war das aber nicht mehr zulässig, hier musste das wirkliche Wasservolum des Kruors in Rechnung gezogen werden. Deshalb finden sich bei den einzelnen Analysen die Angaben über

Volum und Gewicht des Kruor und über den Prozentgehalt an Trockensubstanz.

1. Pferdekruor.

30 cm^3 wiegen 33,8 g, daher spez. Gew. des Kruors 1,127. 10 g Kruor geben 3,6 g = 36 % Trockensubstanz, daher Wasservolum des Kruors 72,1 Vol. %, Volum der Trockensubstanz 27,9 Vol. %.

A. Dialysenanalyse:

15 cm^3 = 16,9 g Kruor mit rund 11 cm^3 Wasser werden mit Wasser auf 60 cm^3 gebracht und davon 50 cm^3 = 14 g Kruor = etwa 10 cm^3 H_2O gegen 100 cm^3 Wasser zur Dialyse angesetzt und 58 Stunden dialysiert.

Volum des Dialysats 78 cm^3, darin Rohrzucker 0,06 % oder in den 146 cm^3 Wasser der Dialyse und somit in den 14 g = 12,5 cm^3 Kruor 0,088 g oder rund 0,9 cm^3 der 9,25 %igen Rohrzuckerlösung, mit der der Kruor ausgewaschen wurde. Das entspricht aber einem Gehalt des agglutinierten Kruors an Zwischenflüssigkeit von 7 Vol. %, die bei der Berechnung der weiteren Analysen auf die reine Blutkörpermasse zu berücksichtigen sind.

Alkalititration des Dialysats:
10 cm^3 = 0,1 cm^3 n/50 H_2SO_4, d. h. eine für die weiteren Betrachtungen zu vernachlässigende Spur.

Chlortitration des Dialysats:
10 cm^3 = 4,0 cm^3 n/100 $AgNO_3$ = 0,0014 g Cl, oder in 146 cm^3 Wasser der ganzen Dialyse = in 14 g Kruor 0,0205 g = **0,146** % Cl.

Kontrolldialyse über den Konzentrationsausgleich der Chloride: Der Inhalt des Dialysators 72 cm^3 mit 68 cm^3 Wasser und einem aus dem obigen Dialysat berechneten Chlorgehalt von 0,0095 g wird wieder 50 Stunden gegen 100 cm^3 Wasser dialysiert.

Chlortitration des 2. Dialysats: 20 cm^3 = 3,2 cm^3 n/100 $AgNO_3$ = 0,0011 g Cl was 0,0093 g Cl in der ganzen Dialyse oder in den 68 cm^3 Inhalt des Dialysators entspricht und somit den Konzentrationsausgleich der Chloride bei der Dialyse beweist.

Bestimmung von Calcium, Magnesium, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Kalium und Natrium im Dialysat:

50 cm^3 Dialysat werden etwas eingeengt, mit Essigsäure schwach angesäuert, mit Ammonoxalat das Calcium gefällt: nicht näher bestimmbarer Niederschlag.

Das Filtrat wird eingeengt, mit Chlorammonium versetzt und mit Ammoniak übersättigt zur Fällung des Magnesium: äusserst geringer nicht wägbarer Niederschlag.

Ohne diesen Niederschlag abzufiltrieren Zusatz von Ammoniummagnesiumchlorid zur Fällung der Phosphorsäure:

$Mg_2P_2O_7$ 0,0012 g = 0,00077 g P_2O_5 = 0,00103 g PO_2, das ergibt für die ganze Dialyse und somit für die 14 g Kruor 0,0022 g oder 0,016 % P_2O_5 und 0,003 g oder **0,021** % PO_4.

Filtrat wird abgedampft, Ammonsalze abgeraucht, Rückstand mit wenig Salzsäure in Wasser gelöst und heiss mit Bariumchlorid die Schwefelsäure gefällt:

$BaSO_4$ 0,0033 g = 0,0013 g SO_4, das ergibt für die ganze Dialyse und für die 14 g Kruor 0,0038 g oder **0,028** % SO_4.

Filtrat wird durch Ammonkarbonat vom überschüssigen Barium und nach Eindampfen durch wiederholtes Glühen mit Oxalsäure von der zugesetzten Magnesia befreit, dann mit etwas Salzsäure eingedampft, geglüht und Kalium und Natrium zusammen als Chlorid gewogen:

KCl + NaCl 0,029 g, daraus durch Platinchlorid das Kalium abgeschieden:

K_2PtCl_6 0,0842 g = 0,0258 KCl, daraus berechnet sich für die 14 g Kruor 0,0477 g oder 0,344 % K_2O und 0,0396 g oder **0,286** % K.

Das gefundene Kaliumchlorid von der Summe der Alkalichloride abgezogen gibt 0,0032 g NaCl und somit für 14 g Kruor 0,00496 g oder 0,0358 % Na_2O und 0,00368 g oder **0,0266** % Natrium.

B. Aschenanalyse:

14 g Kruor werden getrocknet, verascht und die Asche mit 50 cm^3 Wasser extrahiert.

Chlortitration des Wasserextraktes: 10 cm^3 = 6,8 cm^3 n/100 $AgNO_3$ = 0,0024 g Cl oder in den 14 g Kruor 0,0121 g = **0,09** % Cl.

Der in Wasser unlösliche Teil der Asche wird mit wenig Salzsäure gelöst, die Lösung mit Wasser auf 50 cm^3 gebracht, 10 cm^3 davon weggenommen und der Rest mit dem Rest vom Wasserextrakt vereinigt, was nun noch 11,2 g vom ursprünglichen Kruor entspricht. Die Aschelösung wird stark eingeengt, mit Ammoniak und Ammonacetat das Eisen samt der Phosphorsäure gefällt und im Filtrat das Calcium durch Ammonoxalat abgeschieden:

Keine Spur eines Niederschlages.

Daher Übersättigen des Filtrates mit Ammoniak zur Fällung des Magnesiums:

$Mg_2P_2O_7$ 0,001 g, eine Menge, die zu einer genauen Berechnung des Magnesiumgehaltes des Kruors nicht ausreicht, aber etwa 0,009 % MgO und 0,006 % Mg entspricht.

Das Filtrat wird zur Fällung der Phosphorsäure mit Ammoniummagnesiumchlorid versetzt:

Der Niederschlag ist sehr gering und wird mit dem Niederschlag zusammen gewogen, der von der Phosphorsäure der Eisenfällung stammt. Diese Fällung wird in verdünnter Salzsäure gelöst, nach Zusatz von Weinsäure die Lösung mit Ammoniak übersättigt, mit Schwefelammon das Eisen gefällt und im Filtrat nach Vertreiben des Schwefelammons mit Ammoniak und Ammoniummagnesiumchlorid die Phosphorsäure abgeschieden:

Gesamt: $Mg_2P_2O_7$ 0,021 g = 0,0134 oder 0,109 % P_2O_5
und 0,0179 g = **0,146** % PO_4.

Das Filtrat wird durch Bariumchlorid von der Schwefelsäure, die in der Asche zu bestimmen ja wenig Wert hat, dann vom Überschuss dieses Reagens mit Ammonkarbonat befreit, eingedampft, die Ammonsalze abgeraucht und aus dem Rückstand durch mehrmaliges Glühen mit Oxalsäure die Magnesia entfernt, schliesslich mit Salzsäure eingedampft, geglüht und Kalium und Natrium als Chloride gewogen:

KCl + NaCl 0,0745 g, daraus durch Platinchlorid das Kalium abgeschieden; K_2PtCl_6 0,219 g = 0,0672 g KCl, somit in den 11,2 g Kruor enthalten: 0,0425 g oder 0,38 % K_2O und 0,0353 g oder **0,315** % Kalium.

0,0672 g KCl abgezogen von der Summe der Alkalichloride gibt 0,0073 g NaCl somit in 11,2 g Kruor 0,00388 g = 0,0346 % Na_2O oder 0,00288 g = **0,0257** % Na.

Die gefundenen Analysenwerte auf die reinen Blutkörper berechnet und die Resultate der Dialysen- und der Aschenanalyse zum Vergleich einander gegenübergestellt enthält die nachstehende Tabelle.

1000 g Pferdeblutkörper enthalten in Gramm

	Cl	PO_4	SO_4	Ca	Mg	K	Na
Dialysenanalyse	1,56	0,225	0,3	Spur	Spur	3,06	0,284
Aschenanalyse	0,96	1,56	—	0	0,06	3,37	0,275

2. Pferdekruor:

50 cm³ wiegen 56,5 g, daher das spez. Gew. des Kruors 1,13. 32,3 g Kruor geben 11,9 g = 37 % Trockensubstanz, daher Wasservolum des Kruors 72,2 Vol. % und Volum der Trockensubstanz 27,8 Vol. %, woraus sich so nebenbei ein annäherndes spez. Gewicht für das Hämoglobin zu 1,47 berechnen lässt. Der Kruor war scheinbar maximal agglutiniert.

A. Dialysenanalysen:

50 cm³ Kruor = 56,5 g werden in 100 cm³ Wasser gelöst und von den 150 cm³ zweimal je 50 cm³ = 18,8 g = 16,7 cm³ Kruor mit 12 cm³ H_2O gegen 100 cm³ Wasser 63 Stunden dialysiert.

I. Dialysat 75 cm³, darin Rohrzucker 0,04 % oder in den 145,3 cm³ Wasser der Dialyse 0,058 g oder rund 0,6 cm³ der 9,25 %igen Rohrzuckerlösung, die zum Auswaschen des Kruors diente. Das entspricht einem Gehalt des agglutinierten Kruors an Zwischenflüssigkeit von etwa 3 Vol. %.

Alkalititration des Dialysats:
10 cm³ = 0,05 cm³ n/50 H_2SO_4, d. h. eine minimalste Spur.

Chlortitration des Dialysats: 10 cm³ = 6,0 cm³ n/100 $AgNO_3$ = 0,00213 g Cl oder in den 145,3 cm³ Wasser der Dialyse = 18,8 g Kruor 0,0308 g = **0,163** % Cl.

Kontrolldialyse über den Konzentrationsausgleich der Chloride: der Inhalt des Dialysators 75 cm³ mit 70,3 cm³ Wasser und 0,015 g Cl berechnet, wird nochmals gegen 100 cm³ Wasser 50 Stunden dialysiert:

Chlortitration des Dialysats: 20 cm³ = 5,0 cm³ n/100 $AgNO_3$ = 0,00177 g Cl = 0,015 g Cl in der ganzen Dialyse oder in den 70,3 cm³ Inhalt des Dialysators, womit der Konzentrationsausgleich der Chloride bei der ersten Dialyse bewiesen ist.

50 cm³ vom Dialysat werden mit 50 cm³ vom Dialysat der zweiten Dialyse vereinigt.

2. Dialysat 77 cm³, Rohrzucker darin nicht bestimmt:

Alkalititration des Dialysats: das Dialysat reagiert auf Lackmus und Phenophthalein schwach sauer.

Chlortitration des Dialysats:
10 cm³ = 6,0 cm³ n/100 $AgNO_3$ = 0,00213 g Cl oder in den 145,3 cm³ Wasser der ganzen Dialyse = in 18,8 g Kruor 0,0308 g = **0,163** % Cl.

Kontrolldialyse: der Inhalt des Dialysators 68,3 cm³ mit 0,0145 g berechnetem Chlorgehalt wird nochmals gegen 100 cm³ Wasser 50 Stunden dialysiert.

Chlortitration des Dialysats: 20 cm³ = 4,9 cm³ n/100 $AgNO_3$ = 0,00174 g Cl = 0,0156 g Cl in den 168,3 cm³ Wasser der Dialyse oder in den 68,3 cm³ Inhalt des Dialysators, was den Konzentrationsausgleich beweist.

Bestimmung von Calcium, Magnesium, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Kalium und Natrium im Dialysat:

Die 100 cm³ von beiden Dialysaten werden etwas eingedampft, mit Essigsäure schwach angesäuert und mit Ammonoxalat darin das Calcium gefällt:

CaO 0,001 g = 0,00071 g Ca oder in 145,3 cm³ Wasser der Dialyse = in 18,8 g Kruor 0,00145 g = 0,008 % CaO oder 0,001 g = 0,005 % Ca.

Das Filtrat wird eingeengt, mit Chlorammonium versetzt, mit Ammoniak stark übersättigt zur Fällung des Magnesiums:

$Mg_2P_2O_7$ 0,003 g = in 18,8 g Kruor 0,0015 g = 0,0079 % MgO oder 0,0051 % Mg:

Filtrat mit Ammoniummagnesiumchlorid zur Abscheidung der Phosphorsäure versetzt:

Gesamt $Mg_2P_2O_7$ 0,005 g = 0,0032 g P_2O_5 oder 0,0043 g PO_4 = in 18,8 g Kruor 0,0046 g oder 0,0246 % P_2O_5 = 0,006 g oder **0,032** % PO_4.

Filtrat abgedampft, Ammonsalze abgeraucht, Rückstand mit wenig Salzsäure in Wasser gelöst und darin heiss mit Bariumchlorid die Schwefelsäure gefällt:

$BaSO_4$, 0,009 g = 0,0038 g H_2SO_4 = 0,0037 g SO_4 und in 188 g Kruor 0,0055 g = 0,029 % H_2SO_4 oder 0,0053 g = **0,028** % SO_4.

Das Filtrat wird in der schon mehrfach beschriebenen Art auf Kalium und Natrium verarbeitet:

KCl + NaCl 0,0773 g, daraus mit Platinchlorid zur Bestimmung des Kalium:

K_2PtCl_6 0,225 g = 0,0691 KCl, das gibt für 18,8 g Kruor 0,00633 g = 0,336 % K_2O oder 0,0053 g = **0,279** K.

Kaliumchlorid von der Summe der Alkalichloride abgezogen, gibt 0,0082 g NaCl, somit in den 18,8 g Kruor 0,0336 % Na_2O oder **0,0249** % Natrium.

B. Aschenanalysen:

I. 16 g Kruor werden getrocknet, verascht die Asche mit 50 cm^3 Wasser extrahiert und im Extrakt das Chlor titriert:

Chlortitration des Wasserextraktes:

10 cm^3 = 10 cm^3 n/100 $AgNO_3$ = 0,00355 g Cl daher in den 16 g Kruor 0,01775 g = **0,111** % Cl.

Der wasserunlösliche Teil der Asche wird mit wenig Salzsäure gelöst, die Lösung mit Wasser auf 50 cm^3 gebracht, 10 cm^3 davon weggenommen und der Rest mit dem Rest des Wasserextraktes vereinigt, was noch 12,8 g Kruor entspricht.

Die Aschelösung wird stark eingeengt, dann daraus das Eisen samt der Hauptmenge von Phosphorsäure mit Ammoniak und Ammonacetat gefällt und im Filtrat durch Ammonoxalat das Calcium abgeschieden: kaum merkliche nicht filtrierbare Trübung.

Es wird deshalb sogleich mit Ammoniak zur Fällung des Magnesium stark übersättigt: für sich nicht wiegbarer Nieder-

schlag, ebenso auf Zusatz von Ammoniummagnesiumchlorid zur Fällung der Phosphorsäure: nicht wiegbaren Niederschlag. Beide Niederschläge werden mit der Phosphorsäurefällung aus dem Eisenphosphatniederschlag vereinigt zur Bestimmung der gesamten Phosphorsäure gewogen: $Mg_2P_2O_7$ 0,0220 g das gibt für die ursprünglichen 16 g Kruor 0,0157 g = 0,093 % P_2O_5 oder 0,0209 g = **0,13** % PO_4.

Das Filtrat wird in bekannter Weise durch Entfernung der Schwefelsäure und der Magnesia auf Kalium und Natrium verarbeitet:

KCl + NaCl 0,0843 g daraus mit Platinchlorid das Kalium abgeschieden:

K_2PtCl_6 0,246 g = 0,0755 KCl, daher in 16 g Kruor 0,0585 g = 0,366 % K_2O oder 0,0486 g = **0,304** % Kalium.

Das Kaliumchlorid von der Summe der Alkalichloride abgezogen gibt 0,0088 g NaCl, daher in 16 g Kruor 0,00557 g = 0,0348 % Na_2O oder 0,00415 g = **0,0258** % Natrium.

II. 13,5 g Kruor werden genau in voriger Art und Weise verascht und die Asche analysiert.

Chlortitration des Wasserextraktes:
10 cm³ = 7,0 n/100 $AgNO_3$ = 0,0025 g Cl = **0,092** % des Kruors.

Calcium: schwache Trübung.

Magnesium: deutlicher, aber für sich nicht wiegbarer Niederschlag.

Phosphorsäure: $Mg_2P_2O_7$ 0,0252 g = in 13,5 g Kruor 0,0161 g = 0,119 % P_2O_5 = 0,0215 g = **0,159** % PO_4.

Kalium-Natrium: KCl + NaCl 0,086 g, daraus K_2PtCl_6 0,2532 g = in 13,5 g Kruor 0,0491 g = 0,364 % K_2O oder 0,0408 g = **0,302** % Kalium.

NaCl 0,0083 g = in 13,5 g Kruor 0,0044 g = 0,0339 % Na_2O oder 0,0032 g = **0,0237** % Natrium.

Auf die reinen Blutkörper berechnet, finden sich die Daten dieser Kruoranalysen in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt.

1000 g Pferdeblutkörper enthalten in Gramm:

	Cl	PO_4	SO_4	Ca	Mg	K	Na
1. Dialysenanalyse	1,680	0,329	0,288	0,050	0,051	2,87	0,256
2. Dialysenanalyse	1,680						
1. Aschenanalyse	1,143	1,340	—	Spur	Spur	3,13	0,266
2. Aschenanalyse	0,947	1,22	—	Spur	Spur	3,11	0,244

3. Pferdekruor:

40 cm^3 wiegen 45,3 g, daher das spezif. Gewicht des Kruors 1,13.

13,5 cm^3 = 15,3 g Kruor geben 5,5 g = 36 % Trockensubstanz, daraus berechnet sich das Wasservolum des Kruors zu 72,3 Vol. %. Der Kruor war nicht maximal agglutiniert, was zu treffen eben Zufall ist.

A. Dialysenanalysen:

40 cm^3 Kruor = 45,3 g werden in doppeltem Volum Wasser gelöst und von den 120 cm^3 Lösung zweimal je 50 cm^3 = 16,7 cm^3 = 18,88 g Kruor mit 12 cm^3 Wasser gegen 100 cm^3 Wasser 60 Stunden dialysiert.

I. Dialysat: 68 cm^3, darin Rohrzucker 0,07 % oder in den 145,3 cm^3 Wasser der Dialyse 0,102 g oder 1,2 cm^3 der 9,20 % Rohrzuckerlösung, was einem Gehalt des agglutinierten Kruors an Zwischenflüssigkeit von etwa 6 Vol. % entspricht.

Alkalititration des Dialysats:

10 cm^3 = 1,2 cm^3 n/50 H_2SO_4 = 0,001 g NaOH = 0,00072 g CO_3: daher in 13,88 g Kruor 0,0105 g = 0,06 % CO_3.

Chlortitration des Dialysats:

10 cm^3 = 5,4 cm^3 n/100 $AgNO_3$ = 0,00192 Cl, somit in 18,88 g Kruor 0,028 g = **0,148** % Cl.

Kontrolldialyse für den Konzentrationsausgleich:

Der Inhalt des Dialysators soll 0,0148 g Cl enthalten.

Chlortitration des Dialysats: 10 cm^3 = 2,6 cm^3 n/100 $AgNO_3$ = 0,000823 g Cl, somit in dem Inhalt des Dialysators 0,0145 g Cl, wodurch der Konzentrationsausgleich bewiesen ist.

Bestimmung von Calcium, Magnesium, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Kalium und Natrium:

50 cm³ Dialysat werden eingeengt, mit Essigsäure schwach angesäuert und mit Ammonoxulat das Calcium gefällt: nicht wiegbarer Niederschlag.

Filtrat mit Chlorammon und viel Ammoniak zur Fällung des Magnesium versetzt: nicht wiegbarer Niederschlag, der mit dem folgenden zusammen abfiltriert wird, daher Zusatz von Ammoniummagnesiumchlorid zur Fällung der Phosphorsäure:

$Mg_2P_2O_7$ 0,0014 g = in 18,88 g Kruor 0,0025 g P_2O_5 oder 0,013 % sowie 0,00347 g PO_4 oder **0,0184** %.

Filtrat eingedampft, Ammonsalze abgeraucht, Rückstand mit wenig Salzsäure in Wasser gelöst und in der Lösung heiss mit Bariumchlorid die Schwefelsäure gefällt:

$BaSO_4$ 0,004 g = in 18,88 g Kruor 0,0048 g oder 0,026 % H_2SO_4 sowie 0,0047 g oder **0,025** % SO_4.

Filtrat wird zur Bestimmung von Kalium und Natrium weiter behandelt:

KCl + NaCl 0,0395 g, daraus durch Platinchlorid zur Abscheidung des Kaliums:

K_2PtCl_6 0,115 g ≙ 0,0353 g KCl, somit in den 18,88 g Kruor 0,0647 g oder 0,343 % K_2O und 0,0536 g oder **0,284** % Kalium.

Das Kaliumchlorid von der Summe der Alkalichloride abgezogen gibt 0,0042 g NaCl und somit in den 18,88 g Kruor: 0,0067 g oder 0,035 % Na_2O und 0,0049 g oder **0,026** % Natrium.

II. Dialysat ist zur Untersuchung nicht geeignet, weil sich von einer vernickelten Bunsenklemme darin viel Eisen gelöst hat.

B. Aschenanalysen:

I. 5,8 g Kruor werden genau in der früheren Weise verascht und die Asche analysiert auf Chlor, Calcium, Magnesium, Phosphorsäure, Kalium und Natrium.

Chlortitration: 10 cm³ Aschelösung = 3,5 n/100 $AgNO_3$ = 0,00094 g Cl, somit in 5,8 g Kruor 0,0047 g = **0,08** % Cl.

Calcium: keine Spur von Niederschlag oder von Trübung.

Magnesium: ebenfalls kein Niederschlag.

Phosphorsäure: $Mg_2P_2O_7$ 0,0075 g = in 5,8 g Kruor 0,0057 g = 0,09 P_2O_5 sowie 0,00756 g = **0,13** % PO_4.

Kalium und Natrium: KCl + NaCl 0,0315 g daraus K_2PtCl_6 0,092 g = 0,0283 KCl somit in 5,8 g Kruor 0,0214 g = 0,36 % K_2O, sowie 0,0178 g = **0,3** % Kalium.

0,0032 g NaCl = in 5,8 g Kruor 0,002 g oder 0,065 % K_2O sowie 0,0015 g = **0,026** % Natrium.

II. 8,5 g Kruor werden um eine Verflüchtigung von Chlor in der Hitze zu verhindern mit 0,5 g Calciumkarbonat eingedampft und verascht, die Asche mit 50 cm³ ausgezogen und darin Chlor und die Alkalimetalle sowie im unlöslichen Rückstand, der allein Phosphorsäure enthielt, diese bestimmt.

Chlortitration des Wasserextraktes: 10 cm³ = 7,0 cm³ n/100 $AgNO_3$ = 0,0025 g Cl, somit in 8,5 g Kruor 0,0125 g = **0,146** % Cl.

30 cm³ des Wasserextraktes werden zur Bestimmung von Kalium und Natrium in bekannter Weise behandelt.

KCl + NaCl 0,0340 g daraus K_2PtCl_6 0,100 g = 0,0307 KCl, somit in 8,5 g Kruor 0,0323 g oder 0,38 % K_2O und 0,0268 g = **0,3** % Kalium.

Das Kaliumchlorid von der Summe der Alkalichloride abgezogen ergibt 0,0033 g NaCl, das entspricht für 8,5 g Kruor 0,0029 g oder 0,034 % Na_2O 0,0022 g oder **0,025** % Natrium.

Phosphorsäure aus dem wasserunlöslichen Teil der Asche: $Mg_2P_2O_7$ 0,0173 g, daher in 8,5 g Kruor = 0,0011 g P_2O_5 oder 0,13 % und 0,00148 g oder **0,17** % PO_4.

Diese Resultate auf die reinen Blutkörper bezogen, gibt folgende Zusammenstellung:

1000 g Blutkörper enthalten in Gramm

	Cl	PO_4	SO_4	Ca	Mg	K	Na
Dialysenanalyse	1,57	0,195	0,265	Spur	Spur	3,01	0,275
Aschenanalyse ohne Zusatz	0,85	1,38	—	0	Spur	3,20	0,275
Aschenanalyse mit Calciumkarbonat	1,55	1,80	—	—	—	3,20	0,265

4. Resultate.

1. Die Blutkörper enthalten wirkliche Salze, denn es finden sich deren positive und negative Bestandteile im Dialysat. Diese Feststellung, die nicht den Anspruch auf Neuheit macht, da sie auch aus anderen Beobachtungen, besonders aus den osmotischen Eigenschaften gefolgert werden muss, bedarf einer Einschränkung insofern, als nicht behauptet werden kann, dass alle im Dialysat gefundenen Salze, auch in den intakten Blutkörpern als solche enthalten sind. Durch die Auflösung der Blutkörper in Wasser ist die Möglichkeit hydrolytischer Abspaltung positiver und negativer Salzkomponenten vom Hämoglobin oder anderen Eiweissstoffen der Blutkörper gegeben, und kommt, wie Gefrierpunktsbestimmungen mit verschieden stark mit Wasser verdünntem Kruor beweisen, auch tatsächlich vor. Die Chloride dürfen aber wohl in der ganzen durch die Dialyse ermittelten Menge als Bestandteile der Blutkörper angesehen werden. Nach den Erfahrungen an den chlorfrei gewaschenen Rinderblutkörpern kommt ihnen auch der wesentlichste Anteil am osmotischen Druck in den Blutkörpern zu.

2. Elektropositive Bestandteile der Pferdeblutkörpersalze sind: **K, Na, Mg** und vielleicht auch Ca, doch ist es nicht ganz ausgeschlossen, dass das besonders im Dialysat, weniger in der Asche gefundene Calcium von den Gläsern oder den zwar aufs peinlichste gereinigten Pergamentsäcken herstammt. Jedenfalls möchte ich mich in dieser Frage nicht in Gegensatz stellen zu der Behauptung Abderhaldens(4), der die Pferdeblutkörper frei von Calcium gefunden hat. Dagegen muss ich die Angabe Abderhaldens(4), wonach die Pferdeblutkörper auch kein Natrium enthalten sollten, des Entschiedensten als unzutreffend zurückweisen. Wenn auch das Kalium der elektropositive Hauptbestandteil der Pferdeblutkörpersalze ist, so kommt neben ihm und zwar gleich an zweiter Stelle, auch eine nicht unbeträchtliche Menge Natrium darin vor. Das Magnesium muss, wenn es auch häufig nicht oder nur schwach in Reaktion trat, doch als absolut gesicherter Bestandteil der Blutkörpersalze angesehen werden.

Ein Vergleich der Dialysen- mit der Aschenanalyse lehrt, dass ein Teil der Alkalimetalle und zwar ganz sicher des Kaliums, wie im Serum so auch in den Blutkörpern an nicht diffusible Stoffe, d. h. Eiweisskörper, gebunden ist.

3. Als elektronegative Komponenten der Pferdeblutkörpersalze wurden gefunden: **Cl**, **PO_4**, **SO_4** und in sehr unbestimmter Menge CO_3.

Gemäss den Ergebnissen der Kontrolldialysen sind die Chloride der Blutkörper, wie schon hervorgehoben, als in deren Wasser einfach gelöst zu betrachten. Sie bilden, im Gegensatz zu der bisherigen Anschauung über die Zusammensetzung der Blutkörpersalze, den Hauptbestandteil derselben. Das gilt nicht nur für die Pferdeblutkörper, sondern auch für viele andere, wahrscheinlich sogar für alle Blutkörperarten, zumal sie durchweg schon in der Asche einen gleichen oder grösseren Chlorgehalt zeigen als die Pferdeblutkörper.

Phosphate kommen dagegen als freie Salze in den Pferdeblutkörpern nur in sehr geringer Menge in Betracht und man darf sogar annehmen, dass ein Teil der im Dialysat gefundenen Menge durch Hydrolyse aus kolloidaler Bindung abgespalten ist. Das steht nun wiederum in Widerspruch mit der bisherigen Vorstellung von der Zasammensetzung der Blutkörpersalze und mag um so mehr befremden, als in der Asche grosse Mengen Phosphorsäure gefunden werden, die doch nur zu einem geringen Teil von Lecithin und Nuklein stammen können. Es muss daher der weitaus grösste Teil der in der Asche gefundenen Phosphorsäure entweder nicht als solche in den Blutkörpern vorgebildet, oder in kolloidaler Bindung enthalten sein. Für letzteres spricht, dass man bei fortgesetzter Dialyse mit immer neuen Mengen Wasser, wie es mit meinem Destillationsdialysator ausführbar ist, grössere Mengen von Phosphorsäure erhält, als den durch die Dialysenanalyse ermittelten Werten entsprächen. Das heisst, durch fortgesetzte Wirkung der Hydrolyse werden immer grössere Mengen Phosphorsäure diffusibel gemacht.

Ferner deutet auf kolloidale Bindung der Phosphorsäure und zwar an Hämoglobin die früher erwähnte Beobachtung hin, dass nach Kristallisation des Hämoglobins ein beträchtlich grösserer Anteil der Phosphorsäure in das Dialysat übergeht. Versuche,

auch an ausgewaschenen Pferdeblutkörpern diese Beobachtung zu konstatieren, scheiterten daran, dass das Hämoglobin nicht auskristallisierte. Ich vermute, dass für die leichte Kristallisation des Hämoglobins bei der Dialyse von ungewaschenem Kruor die Alkalikarbonate des Serums oder dessen Kalk von Bedeutung sein könnten. Die Phosphorsäure würde in diesem Falle nicht durch Hydrolyse, sondern durch stärkere chemische Affinitäten vom Hämoglobin abgespalten und diffusibel gemacht. Das wäre auch um so mehr verständlich, als die Rechnung ergibt, dass die Phosphorsäure nicht allein durch Vermittlung oder in Verbindung mit Metallen an das Hämoglobin gebunden sein kann, sondern für sich allein gebunden sein muss, denn die vorhandenen Metalle reichen bei weitem nicht aus, um die bei der Dialysenanalyse und in der Asche gefundenen Säuren zu binden. Dass in den Blutkörpern die sauren Affinitäten stark überwiegen müssen, erhellt auch aus einem Vergleich des durch die Dialyse mit dem in der Asche gefundenen Chlorgehalts. Im ersteren Falle ist er bedeutend höher als im letzteren, worauf ich schon früher hingewiesen habe und was mir so besonders schwer verständlich erschien.

In der zweiten Aschenanalyse des dritten Kruors habe ich diesem vor der Veraschung etwas kohlensauren Kalk zugesetzt. Die Folge davon war, dass nunmehr in dem Dialysat und in der Asche der gleiche Chlorgehalt und in der Asche auch zugleich mehr Phosphorsäure, als in der Asche ohne Zusatz gefunden wurde. Hieraus aber geht hervor, dass bei der Veraschung Chlor durch eine in der Hitze stärkere Affinität aus seiner Bindung an Kalium ausgetrieben wird und so für die Bestimmung verloren geht, was jedoch nicht geschieht, wenn basische Affinitäten im Überschuss vorhanden sind, wie nach dem Kalkzusatz. Die in der Hitze stärkeren sauren Affinitäten können aber nur in der bei der Veraschung frei werdenden Phosphorsäure liegen.

4. Aus diesen Betrachtungen geht hervor, dass die Aschenanalyse nicht nur dadurch ein unrichtiges Bild vom Salzgehalt der Blutkörper gibt, weil elektropositive (kolloidal gebundene Metalle) und negative Salzkonstituenten dabei entstehen, sondern auch dadurch,

dass bestehende Salze bei der Veraschung zerstört werden, und so für die Analyse verlustig gehen.

5. Als neu darf auch bei dieser Untersuchung der Nachweis von einer nicht unbeträchtlichen Menge von Schwefelsäure in den Blutkörpern angesehen werden.

6. Nicht unerwähnt darf bleiben die unerwartet geringe Menge, ja das fast gänzliche Fehlen von titrierbarem Alkali oder Alkalikarbonaten im Dialysat, das um so mehr als die Affinitäten der Cl, PO_4, SO_4, nicht ausreichen, um das im Dialysat gefundene Kalium und Natrium zu binden. Die Vermutung, dass vielleicht die Phosphorsäure als Metaphosphorsäure in das Dialysat übergehe und deshalb den Reaktionen auf Orthophosphorsäure entgangen sei, hat sich nicht bestätigt. Bei der Oxydation des eingedampften Dialysats mit Soda und Salpeter erhielt ich zwar eine etwas grössere Menge Phosphorsäure, doch war das so wenig mehr, dass es fast innerhalb der Grenzen der Bestimmungsfehler liegt. Ich stehe deshalb hier vor einem vollständig neuen Rätsel, dessen Lösung meine nächste Aufgabe sein wird.

Die besprochenen Analysen sind alle an arteriellen Blutkörpern angestellt worden. Nun habe ich aber gezeigt, dass durch Sättigung des Blutes mit Kohlensäure viel Chlor, oder wie ich mich ausdrückte viel Salzsäure aus dem Serum in die Blutkörper übergeht, was selbstverständlich den Salzbestand der Blutkörper beeinflussen muss. Es wäre deshalb geboten gewesen auch Kruor von mit Kohlensäure gesättigtem Blut, mit Kohlensäure gesättigter Rohrzuckerlösung auszuwaschen und der Dialysen- und Aschenanalyse zu unterwerfen. Die geplanten Versuche scheiterten aber sofort daran, dass die Blutkörper schon beim 2. Auswaschen unter starker Hämolyse agglutinierten, wie es sich dann auch zeigte, dass eine geringe Menge Kohlensäure schon ausreicht, um alle mit Rohrzuckerlösung gewaschenen Blutkörper zu agglutinieren. Dafür bieten die neuen Befunde über den Salzgehalt der Pferdeblutkörper nach einer anderen Richtung Gelegenheit sich hier noch kurz mit der erwähnten Behauptung zu beschäftigen.

Meine Anschauung über die Chlorwanderung gründete sich, wie schon früher hervorgehoben, zum Teil auf die Voraussetzung, dass die Pferdeblutkörper kein Natrium enthalten, was sich nun als unrichtig erwiesen hat. Trotzdem muss ich an der Anschauung festhalten, dass es sich bei der Chlorwanderung, nicht wie ich einmal auch selbst glaubte, um einen Austausch von NaCl des Serums gegen Na_2CO_3 der Blutkörper handelt, sondern um eine wirkliche Wanderung von HCl und zwar aus folgenden Gründen:

1. ist der Natriumgehalt der Blutkörper nicht ausreichend zu diesem Austausch;
2. enthalten die Blutkörper zu geringe Mengen an Alkalikarbonat;
3. steht diese Wanderung von Neutralsalzen in stärkstem Widerspruch mit der Theorie von der Semipermeabilität der Blutkörper;
4. muss es sich um die Wanderung von HCl und nicht von Chlorionen, wie Koeppe (12) und Hamburger (13) meinen, handeln, weil beim Schütteln von Kohlensäure Blutkruor in Rohrzuckerlösung mit Sauerstoff, eine auch auf Lackmuspapier saure Waschflüssigkeit entsteht, was beweist, dass aus den Blutkörpern das Chlor nicht als Jon für sich allein, sondern in Gesellschaft eines H-ions, das die saure Reaktion bedingt, somit als HCl austritt.

Literaturverzeichnis.

1. A. Gürber, Salze des Blutes, 1. Teil, Salze des Serums, Verh. d. Physikal.-Medizin. Gesellschaft zu Würzburg, N. F., Bd. 28.
2. Rosenschein, weitere Beiträge zur Kenntnis der Blutsalze, Dissertation, Würzburg 1899.
3. G. v. Bunge, zur quantitativen Analyse des Blutes, Zeitschrift für Biologie. Bd. 12.
4. E. Abderhalden, zur quantitativen Analyse des Blutes, Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 23.
5. G. Thelen, über den Natriumgehalt der Blutkörperchen, Dissertation, Würzburg 1897.
6. A. Gürber, über den Einfluss des Kohlensäure auf die Verteilung von Basen und Säuren zwischen Serum und Blutkörperchen, Sitzungsbericht der Physikal.-Medizin. Gesellschaft zu Würzburg, 1895.
7. L. und M. Bleibtreu, Pflügers Archiv d. Physiolog., Bd. 51, 55 und 60.
8. A. Gürber, über Hämoglobinkrystalle, Sitzungsber. d. Physikal.-Medizin. Gesellschaft, zu Würzburg, 1893.
9. H. Frey, Beiträge z. Kenntnis d. Blutkrystalle, Dissertation, Würzburg 1894.
10. A. Gürber, zur Kenntnis der Chemie und Physiologie des Blutserums, Festschrift für A. Fick, Braunschweig, 1899.
11. E. Overton, Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie, Pflügers Archiv d. Physiol., Bd. 92.
12. Köppe, Pflügers Archiv d. Physiol., Bd. 67.
13. Hamburger, osmotischer Druck und Ionenlehre, Bd. 1, S. 300, Wiesbaden 1902.